

International Search Report

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference F 2000-32-PCT	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/JP00/02034	International filing date (day/month/year) March 30, 2000 (30.03.00)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) March 31, 1999 (31.03.99)
Applicant CCI CORPORATION		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (See Box II).

4. With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

☐ the text is approved as submitted by the applicant.

☒ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____

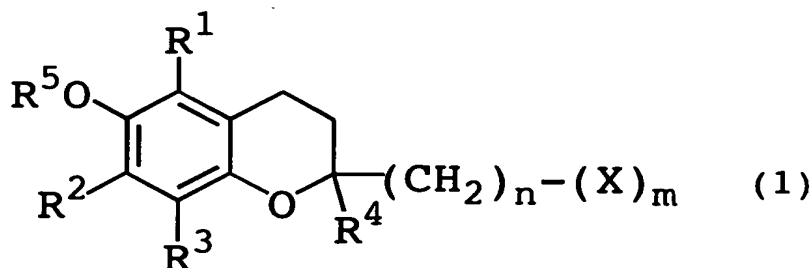
☐ as suggested by the applicant.

☐ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention.

☒ None of the figures.

Box III TEXT OF THE ABSTRACT (Continuation of Item 5 of the first sheet)



Skin preparations for external use which contain chromanol glycosides represented by general formula (1) wherein R^1 , R^2 , R^3 and R^4 are the same or different and each represents hydrogen or lower alkyl; R^5 represents hydrogen, lower alkyl or lower acyl; X represents a monosaccharide residue or an oligosaccharide residue in which the hydrogen atom in the hydroxyl group may be substituted by lower alkyl or lower acyl; n is an integer of from 0 to 6; and m is an integer of from 1 to 6. These preparations are novel preparations which are excellent in stability and transdermal absorbability, can safely exert favorable effects in a small dose and are usable in preventing and treating skin disorders. They are highly useful as preventives and remedies for disorders caused by ultraviolet light, preventives and ameliorators for skin pigmentation, skin whitening agents, skin age resistors, cell potentiators, etc.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/02034

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/7048, A61K7/42, A61K7/48, A61P17/00,
A61P43/00 // C07H15/26, C07H17/065

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/7048, A61K7/00-7/50, A61P17/00,
A61P43/00, C07H15/26, C07H17/065

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN) , CAPLUS (STN) , CAOLD (STN) , REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP, 611152, A1 (CCI CORPOLATION),	1-3, 6
Y	17 August, 1994 (17.08.94) & JP, 7-118287, A & US, 5478812, A & US, 5889164, A	1-6
Y	US, 5780445, A (BEIERSDORF AKTIENGESELLSCHAFT), 14 July, 1998 (14.07.98) & JP, 9-67401, A & EP, 726273, A1 & DE, 19504398, A1	1-6
A	JP, 10-72356, A (CCI Corporation), 17 March, 1998 (17.03.98) (Family: none)	1-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
20 June, 2000 (20.06.00)

Date of mailing of the international search report
27 June, 2000 (27.06.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO0/02034

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A61K31/7048, A61K7/42, A61K7/48, A61P17/00,
A61P43/00 // C07H15/26, C07H17/065

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A61K31/7048, A61K7/00-7/50, A61P17/00,
A61P43/00, C07H15/26, C07H17/065

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), CAPLUS (STN), CAOLD (STN), REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP, 611152, A1 (CCI CORPOLATION) 17.8月.1994(17.08.94)	1-3, 6
Y	&JP, 7-118287, A&US, 5478812, A&US, 5889164, A	1-6
Y	US, 5780445, A (BEIERSDORF AKTIENGESELLSCHAFT) 14.7月1998(14.07.98) &JP, 9-67401, A&EP, 726273, A1&DE, 19504398, A1	1-6
A	JP, 10-72356, A (シーシーアイ株式会社) 17.3月.1998(17.03.98) (ファミリーなし)	1-6

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
- 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

20.06.00

国際調査報告の発送日

27.06.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中木 亜希

4P

9282

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 F2000-32-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/02034	国際出願日 (日.月.年) 30.03.00	優先日 (日.月.年) 31.03.99
出願人(氏名又は名称) シーシーアイ株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は

☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は

☐ 出願人が提出したものを承認する。

☒ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

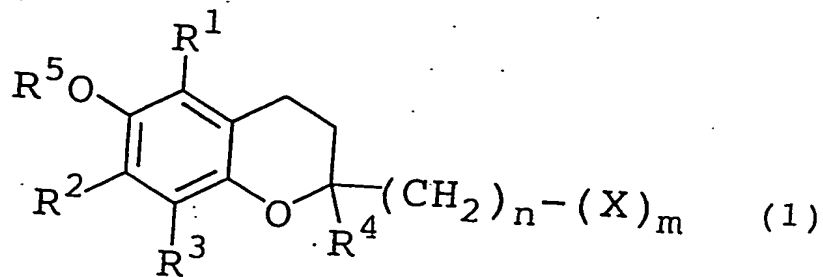
要約書とともに公表される図は、

第 図とする。☐ 出願人が示したとおりである。

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

☒ なし



(ただし、式中 R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 は同一又は異なる水素原子又は低級アルキル基を表し、 R^5 は水素原子、低級アルキル基又は低級アシル基を表し、 X は糖残基中の水酸基の水素原子が低級アルキル又は低級アシル基で置換されていてもよい単糖残基又はオリゴ糖残基を表し、 n は 0 ～ 6 の整数であり、及び m は 1 ～ 6 の整数である) で表されるクロマノール配糖体を含む皮膚外用剤である。安定性、経皮吸収性に優れ、安全かつ少容量で効果的に作用し、皮膚障害を予防、治療する新規な皮膚外用剤であり、紫外線障害予防及び治療剤、皮膚色素沈着予防及び改善剤、皮膚美白化剤、皮膚老化防止剤、又は細胞賦活剤等として極めて有用である。

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP00/02034

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. A61K31/7048, A61K7/42, A61K7/48, A61P17/00,
A61P43/00 // C07H15/26, C07H17/065

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K31/7048, A61K7/00-7/50, A61P17/00,
A61P43/00, C07H15/26, C07H17/065

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), CAPLUS (STN), CAOLD (STN), REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP, 611152, A1 (CCI CORPOLATION) 17. 8月. 1994 (17. 08. 94)	1-3, 6
Y	&JP, 7-118287, A&US, 5478812, A&US, 5889164, A	1-6
Y	US, 5780445, A (BEIERSDORF AKTIENGESELLSCHAFT) 14. 7月 1998 (14. 07. 98)	1-6
	&JP, 9-67401, A&EP, 726273, A1&DE, 19504398, A1	
A	JP, 10-72356, A (シーシーアイ株式会社) 17. 3月. 1998 (17. 03. 98) (ファミリーなし)	1-6

C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

引用文献のカテゴリー

- 「I」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「J」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「J」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
- 「I」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「J」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- 「T」 の日の後に公表された文献
- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」 同一パテントファミリー文献

調査を完了した日

20. 06. 00

国際調査報告の発送日

27.06.00

調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
中木 亜希



4 P 9282

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

CT/ISA/210 (第2ページ) (1998年7月)

PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 F2000-32-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/02034	国際出願日 (日.月.年) 30.03.00	優先日 (日.月.年) 31.03.99
出願人(氏名又は名称) シーシーアイ株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☐ 出願人が提出したものを承認する。

☒ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

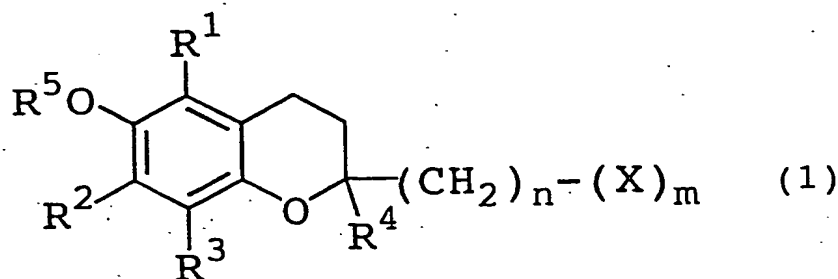
第 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

第Ⅲ欄 要約 (第1ページの5の)



(ただし、式中 R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 は同一又は異なる水素原子又は低級アルキル基を表し、 R^5 は水素原子、低級アルキル基又は低級アシル基を表し、 X は糖残基中の水酸基の水素原子が低級アルキル又は低級アシル基で置換されていてもよい単糖残基又はオリゴ糖残基を表し、 n は 0 ～ 6 の整数であり、及び m は 1 ～ 6 の整数である) で表されるクロマノール配糖体を含む皮膚外用剤である。安定性、経皮吸収性に優れ、安全かつ少容量で効果的に作用し、皮膚障害を予防、治療しうる新規な皮膚外用剤であり、紫外線障害予防及び治療剤、皮膚色素沈着予防及び改善剤、皮膚美白化剤、皮膚老化防止剤、又は細胞賦活剤等として極めて有用である。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/7048, A61K7/42, A61K7/48, A61P17/00,
A61P43/00 // C07H15/26, C07H17/065

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/7048, A61K7/00-7/50, A61P17/00,
A61P43/00, C07H15/26, C07H17/065

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), CAPLUS (STN), CAOLD (STN), REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP, 611152, A1 (CCI CORPOLATION) 17. 8月. 1994 (17. 08. 94)	1 - 3, 6
Y	&JP, 7-118287, A&US, 5478812, A&US, 5889164, A	1 - 6
Y	US, 5780445, A (BEIERSDORF AKTIENGESELLSCHAFT) 14. 7月 1998 (14. 07. 98) &JP, 9-67401, A&EP, 726273, A1&DE, 19504398, A1	1 - 6
A	JP, 10-72356, A (シーシーアイ株式会社) 17. 3月. 1998 (17. 03. 98) (ファミリーなし)	1 - 6

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

20. 06. 00

国際調査報告の発送日

27.06.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中木 亜希



4P

9282

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

PCT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
 US Department of Commerce
 United States Patent and Trademark
 Office, PCT
 2011 South Clark Place Room
 CP2/5C24
 Arlington, VA 22202
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE
 in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 10 November 2000 (10.11.00)	
International application No. PCT/JP00/02034	Applicant's or agent's file reference F2000-32-PCT
International filing date (day/month/year) 30 March 2000 (30.03.00)	Priority date (day/month/year) 31 March 1999 (31.03.99)
Applicant MURASE, Hironobu et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
 20 October 2000 (20.10.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Kiwa Mpay Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

P C T

国際予備審査報告

REC'D 20 APR 2001

WIPO

PCT

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 F2000-32-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。		
国際出願番号 PCT/JPO0/02034	国際出願日 (日.月.年) 30.03.00	優先日 (日.月.年) 31.03.99	
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁷ A61K31/7048, A61K7/42, 7/48, A61P17/00, 43/00 // C07H15/26, 17/065			
出願人 (氏名又は名称) シーシーアイ株式会社			

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>3</u> ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で <u> </u> ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 20.10.00	国際予備審査報告を作成した日 03.04.01		
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 中木 亜希 電話番号 03-3581-1101 内線 3492	4P	9282

1. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、スクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	1-6	有
	請求の範囲		無
進歩性(IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-6	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-6	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: JP, 7-118287, A (シーシーアイ株式会社) 9.5月.1995

文献2: JP, 9-67401, A (バイヤーストルフ・アクチエンゲゼルシャフト) 11.3月.1997

請求の範囲1-6

請求の範囲1-6に係る発明は、国際調査報告に記載されたいずれの文献にも開示されておらず、新規性を有する。特に、本願の一般式(1)で表されるクロマノール配糖体を皮膚外用剤に含有させたことについては、最も関連のある先行技術文献であると認められる文献1にも開示されていない。

請求の範囲1-6に係る発明は、国際調査報告で引用された文献1及び2より進歩性を有しない。

文献1には、一般式(1)で表されるクロマノール配糖体が抗酸化活性を有することが記載されており、上記配糖体は、本願の一般式(1)で表されるクロマノール配糖体と同一物質である。

また、文献1には、上記配糖体を医薬品、化粧品等の原料に用いることができることも示唆されている。ここで、文献1には、従来技術として、過酸化脂質の生成は生体においても老化などの疾病に関連しており、活性酸素などによって引き起こされる過酸化脂質の生成を抑えるために、ビタミンE等の抗酸化剤を、化粧品や医薬品中使用していたことが記載されていることからみて(特に、段落番号【0002】～【0004】を参照。)、上記示唆は、上記配糖体を過酸化脂質の生成によって引き起こされる疾病を改善するための医薬品又は化粧品に用いることを示唆するものと認められる。

一方、文献2には、ビタミンE等の抗酸化剤は、UV光線によって生じたフリーラジカル化合物等の光化学反応生成物が皮膚代謝に介入したことによる皮膚の老化や皮膚病を治療又は予防するために、化粧品、医薬品等の皮膚科学的調製物中に使用されていたことが記載されている。

そこで、文献1に記載の抗酸化活性を有するクロマノール配糖体について、薬理試験等を行うことにより、UV光線によって生じる皮膚の老化や皮膚病に対する治療又は予防効果を確認し、これを皮膚に適した化粧品又は医薬品に適用することは、文献2の記載から当業者が容易に成し得たことである。

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference F 2000-32-PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/02034	International filing date (day/month/year) March 30, 2000 (30.03.00)	Priority date (day/month/year) March 31, 1999 (31.03.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC Int. CI⁷ A61K31/7048, A61K7/42, 7/48, A61P17/00, 43/00 // C07H15/26, 17/065		
Applicant <div style="text-align: center;">CCI CORPORATION</div>		

1.	This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2.	This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet. <input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.
3.	This report contains indications relating to the following items: <ul style="list-style-type: none"> I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand <div style="text-align: center;">October 20, 2000 (20.10.00)</div>	Date of completion of this report <div style="text-align: center;">April 3, 2001 (03.04.01)</div>
Name and mailing address of the IPEA/JP <div style="text-align: center;"> 4-3, Kasumigaseki 3-chome, Chiyoda-ku, Tokyo, 100-8915 </div> Facsimile No.	Authorized officer <div style="text-align: center;">Aki NAKAKI 4P9282</div> Telephone No. 03-3581-1101 (3492)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/JP00/02034

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item. These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/JP00/02034

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1 - 6	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1 - 6	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1 - 6	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

- 1.JP, 7-118287, A (CCI CORPORATION) 09.05.1995
- 2.JP, 9-67401, A (BEIERSDORF AKTIENGESELLSCHAFT) 11.03.1997

Claims 1-6

The inventions covered by claims 1 - 6 of the subject patent application have novelty because they are disclosed in none of the cited references mentioned in the international search report. Particularly the incorporation in the dermatological agent of the chromanol glycoside of the invention represented by the general formula (1) is not disclosed even in Cited Reference 1 which is recognized to be the most closely related piece of prior art literature.

The inventions covered by claims 1 - 6 of the subject patent application have no inventive step in the light of Reference 1 and Reference 2 cited in the international search report.

Cited Reference 1 has a statement with a purport that the chromanol glycoside represented by the general formula (1) possesses an antioxidation activity and the glycoside mentioned above is the same substance as the chromanol glycoside of the present invention represented by the general formula (1).

Cited Reference 1 has a suggestion with a purport that the glycoside mentioned above is usable as a raw material for pharmaceutical preparations, cosmetic preparations, etc. In view of the fact that Cited Reference 1 has a statement with a purport that the prior art has associated the formation of peroxidized lipid even in the living body with such diseases as senescence and that such antioxidation agent as vitamin E has been used in cosmetic preparations and pharmaceutical preparations for the purpose of repressing the formation of peroxidized lipid which is induced by active oxygen (reference particularly directed to paragraph Nos. 0002 - 0004), the suggestion pointed out above is recognized to suggest the use of the glycoside mentioned above in pharmaceutical preparations or cosmetic preparations for the purpose of remedying the diseases induced by the formation of peroxidized lipid.

Cited Reference 2 has a statement with a purport that such an antioxidation agent as vitamin E has been used in such dermatological preparations as cosmetic preparations and pharmaceutical preparations with a view to curing or preventing the senescence of skin and the skin disease owing to the intervention in the cutaneous metabolism of such photochemical reaction products as free radical compounds generated by the UV light.

Thus, the practice of carrying out a pharmacological test on the chromanol glycoside possessing an antioxidation activity as disclosed in Cited Reference 1 thereby confirming the effect of this substance in curing or preventing the senescence of skin and the skin disease caused by the UV light and proceeding to apply this substance to such cosmetic preparations and pharmaceutical preparations as befit the skin could have been easily fulfilled by a person of ordinary skill in the art based on the disclosure of Cited Reference 2.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/02034

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-6	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: JP, 7-118287, A (CCI Corp.) 9 May 1995

Document 2: JP, 9-67401, A (Beiersdorf AG) 11 March 1997

Claims 1-6

The inventions set forth in Claims 1-6 are not disclosed in any of the documents cited in the international search report, and therefore appear to be novel. More specifically, document 1, which is found to be the prior art document most closely related to these inventions, does not disclose that chromanol glycosides represented by General Formula (1) in this application are contained in skin preparations for external use.

Based on the descriptions in documents 1 and 2 cited in the international search report, the inventions set forth in Claims 1-6 do not appear to involve an inventive step.

Document 1 states that the chromanol glycosides represented by General Formula (1) have antioxidant activity, and the chromanol glycosides in that document are the same as those represented by General Formula (1) of this application.

Document 1 also suggests that these glycosides can be used as materials in medicines and cosmetics and the like. Because document 1 states that the production of lipoperoxide is involved in diseases such as aging and the like, and in order to inhibit the production of lipoperoxide, which is caused by active oxygen and the like, antioxidants such as vitamin E and the like are used in cosmetics and medicines (especially see Par. Nos. 0002-0004), this examination finds that the above implication is that these glycosides are used in medicines and cosmetics to remedy diseases caused by the production of lipoperoxide.

Document 2 states that antioxidants such as vitamin E and the like are used in dermatological preparations such as cosmetics and medicines to treat and prevent skin diseases and aging of the skin caused by products of photochemical reactions such as free radicals induced by UV light that are introduced into skin metabolism.

This examination finds that based on the description in document 2, persons skilled in the art can easily perform pharmacological tests and the like on the chromanol glycosides having antioxidant activity described in document 1, verify their therapeutic and preventive effects toward skin diseases and aging of the skin caused by UV light, and utilize them in cosmetics and medicines for the skin.

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕

出願人又は代理人 の書類記号 F 2 0 0 0 - 3 2 - P C T	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ I P E A / 4 1 6）を参照すること。	
国際出願番号 P C T / J P 0 0 / 0 2 0 3 4	国際出願日 (日.月.年) 3 0 . 0 3 . 0 0	優先日 (日.月.年) 3 1 . 0 3 . 9 9
国際特許分類 (I P C) Int. Cl. ⁷ A61K31/7048, A61K7/42, 7/48, A61P17/00, 43/00 // C07H15/26, 17/065		
出願人 (氏名又は名称) シーシーアイ株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 2 0 . 1 0 . 0 0	国際予備審査報告を作成した日 0 3 . 0 4 . 0 1
名称及びあて先 日本国特許庁 (I P E A / J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 中木 亜希 電話番号 03-3581-1101 内線 3492 4 P 9 2 8 2

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- | | | | | |
|--------------------------|------------|---------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> | 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| | 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| | 明細書 | 第 _____ | ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 出願時に提出されたもの |
| | 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| | 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| | 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| | 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| | 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> | 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| | 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| | 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

1-6

有

請求の範囲

無

進歩性(IS)

請求の範囲

有

請求の範囲

1-6

無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲

1-6

有

請求の範囲

無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: JP, 7-118287, A (シーシーアイ株式会社) 9.5月. 1995

文献2: JP, 9-67401, A (バイヤーストルフ・アクチエンゲゼルシャフト) 11.3月. 1997

請求の範囲1-6

請求の範囲1-6に係る発明は、国際調査報告に記載されたいずれの文献にも開示されておらず、新規性を有する。特に、本願の一般式(1)で表されるクロマノール配糖体を皮膚外用剤に含有させたことについては、最も関連のある先行技術文献であると認められる文献1にも開示されていない。

請求の範囲1-6に係る発明は、国際調査報告で引用された文献1及び2より進歩性を有しない。

文献1には、一般式(1)で表されるクロマノール配糖体が抗酸化活性を有することが記載されており、上記配糖体は、本願の一般式(1)で表されるクロマノール配糖体と同一物質である。

また、文献1には、上記配糖体を医薬品、化粧品等の原料に用いることができることも示唆されている。ここで、文献1には、従来技術として、過酸化脂質の生成は生体においても老化などの疾病に関連しており、活性酸素などによって引き起こされる過酸化脂質の生成を抑えるために、ビタミンE等の抗酸化剤を、化粧品や医薬品中に使用していたことが記載されていることからみて(特に、段落番号【0002】～【0004】を参照。)、上記示唆は、上記配糖体を過酸化脂質の生成によって引き起こされる疾病を改善するための医薬品又は化粧品に用いることを示唆するものと認められる。

一方、文献2には、ビタミンE等の抗酸化剤は、UV光線によって生じたフリーラジカル化合物等の光化学反応生成物が皮膚代謝に介入したことによる皮膚の老化や皮膚病を治療又は予防するために、化粧品、医薬品等の皮膚科学的調製物中に使用されていたことが記載されている。

そこで、文献1に記載の抗酸化活性を有するクロマノール配糖体について、薬理試験等を行うことにより、UV光線によって生じる皮膚の老化や皮膚病に対する治療又は予防効果を確認し、これを皮膚に適した化粧品又は医薬品に適用することは、文献2の記載から当業者が容易に成し得たことである。

PCT REQUEST

F2000-32-PCT

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	International Filing Date	
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
0-4 0-4-1	Form - PCT/RO/101 PCT Request Prepared using	PCT-EASY Version 2.90 (updated 08.03.2000)
0-5	Petition The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	Japanese Patent Office (RO/JP)
0-7	Applicant's or agent's file reference	F2000-32-PCT
I	Title of invention	DERMATOLOGICAL AGENT FOR EXTERNAL USE
II	Applicant	
II-1	This person is:	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	CCI CORPORATION
II-5	Address:	12,Shinhazama, Seki-shi, Gifu 501-3923 Japan
II-6	State of nationality	JP
II-7	State of residence	JP
III-1	Applicant and/or inventor	
III-1-1	This person is:	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	MURASE, Hironobu
III-1-5	Address:	2435-178,Nagara, Gifu-shi, Gifu 502-0071 Japan
III-1-6	State of nationality	JP
III-1-7	State of residence	JP

PCT REQUEST

F2000-32-PCT

III-2	Applicant and/or inventor	
III-2-1	This person is:	applicant and inventor
III-2-2	Applicant for	US only
III-2-4	Name (LAST, First)	FUJII, Toshiaki
III-2-5	Address:	1544, Takanosu, Kamoncho, Minokamo-shi, Gifu 505-0051 Japan
III-2-6	State of nationality	JP
III-2-7	State of residence	JP
IV-1	Agent or common representative; or address for correspondence	
	The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	agent
IV-1-1	Name (LAST, First)	HATTA, Mikio
IV-1-2	Address:	Dia Palace Nibancho, 11-9, Nibancho, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0084 Japan
IV-1-3	Telephone No.	03-3230-4766
IV-1-4	Facsimile No.	03-3263-4668
IV-1-5	e-mail	hatta@ma.kcom.ne.jp
IV-2	Additional agent(s)	additional agent(s) with same address as first named agent
IV-2-1	Name(s)	NOGAMI, Atsushi; NARA, Yasuo; SAITOH, Etsuko
V	Designation of States	
V-1	Regional Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	EP: AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
V-2	National Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	CA JP US
V-5	Precautionary Designation Statement In addition to the designations made under items V-1, V-2 and V-3, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) of the State(s) indicated under item V-6 below. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit.	

PCT REQUEST

F2000-32-PCT

V-6	Exclusion(s) from precautionary designations	NONE	
VI-1	Priority claim of earlier national application		
VI-1-1	Filing date	31 March 1999 (31.03.1999)	
VI-1-2	Number	Patent Application 11-093874	
VI-1-3	Country	JP	
VI-2	Priority claim of earlier national application		
VI-2-1	Filing date	31 January 2000 (31.01.2000)	
VI-2-2	Number	Patent Application 2000-022596	
VI-2-3	Country	JP	
VI-3	Priority document request The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s):	VI-1, VI-2	
VII-1	International Searching Authority Chosen	Japanese Patent Office (JPO) (ISA/JP)	
VIII	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
VIII-1	Request	4	-
VIII-2	Description	26	-
VIII-3	Claims	2	-
VIII-4	Abstract	1	f 2000-32-pct.txt
VIII-5	Drawings	1	-
VIII-7	TOTAL	34	
	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
VIII-8	Fee calculation sheet	✓	-
VIII-9	Separate signed power of attorney	✓	-
VIII-10	Copy of general power of attorney	✓	-
VIII-16	PCT-EASY diskette	-	diskette
VIII-17	Other (specified):	Revenue stamps of transmittal fee for receiving office	-
VIII-17	Other (specified):	Submission of certificate of payment for international fee	-
VIII-17	Other (specified):	Request for certification of priority	- Correction by ex officio (30 March 2000)
VIII-18	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
VII-19	Language of filing of the international application	Japanese	
IX	Signature of applicant or agent		
IX-1	Name (LAST, First)	HATTA, Mikio (Seal)	

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
------	---	--

PCT REQUEST

F2000-32-PCT

10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported International application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/JP
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

特許協力条約に基づく国際出願願書

F2000-32-PCT

原本（出願用） - 印刷日時 2000年03月30日（30.03.2000）木曜日 14時55分57秒

0	受理官庁記入欄 国際出願番号.	
0-1		
0-2	国際出願日	
0-3	(受付印)	
0-4	様式-PCT/RO/101 この特許協力条約に基づく国際出願願書は、 右記によって作成された。	PCT-EASY Version 2.90 (updated 08.03.2000)
0-4-1		
0-5	申立て 出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。	
0-6	出願人によって指定された受理官庁	日本国特許庁 (RO/JP)
0-7	出願人又は代理人の書類記号	F2000-32-PCT
I	発明の名称	皮膚外用剤
II	出願人 この欄に記載した者は 右の指定国についての出願人である。	出願人である (applicant only) 米国を除くすべての指定国 (all designated States except US)
II-1		
II-2		
II-4ja	名称	シーシーアイ株式会社
II-4en	Name	CCI CORPORATION
II-5ja	あて名:	501-3923 日本国 岐阜県 関市 新迫間 1 2 番地
II-5en	Address:	12, Shinhazama, Seki-shi, Gifu 501-3923 Japan
II-6	国籍 (国名)	日本国 JP
II-7	住所 (国名)	日本国 JP
III-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor)
III-1-1		
III-1-2	右の指定国についての出願人である。	米国のみ (US only)
III-1-4ja	氏名 (姓名)	村瀬 博宣
III-1-4en	Name (LAST, First)	MURASE, Hironobu
III-1-5ja	あて名:	502-0071 日本国 岐阜県 岐阜市 長良 2 4 3 5 番地の 1 7 8
III-1-5en	Address:	2435-178, Nagara, Gifu-shi, Gifu 502-0071 Japan
III-1-6	国籍 (国名)	日本国 JP
III-1-7	住所 (国名)	日本国 JP



特許協力条約に基づく国際出願願書

原本(出願用) - 印刷日時 2000年03月30日 (30.03.2000) 木曜日 14時55分57秒

III-2 III-2-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor)
III-2-2	右の指定国についての出願人である。	米国のみ (US only)
III-2-4ja III-2-4en III-2-5ja	氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	藤井 利秋 FUJII, Toshiaki 505-0051 日本国 岐阜県 美濃加茂市 加茂野町鷹之巣 1 5 4 4
III-2-5en	Address:	1544, Takanosu, Kamonocho, Minokamo-shi, Gifu 505-0051 Japan
III-2-6	国籍(国名)	日本国 JP
III-2-7	住所(国名)	日本国 JP
IV-1 IV-1-1ja IV-1-1en IV-1-2ja	代理人又は共通の代表者、通知のあて名 下記の者は国際機関において右記のごとく出願人のために行動する。 氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	代理人 (agent) 八田 幹雄 HATTA, Mikio 102-0084 日本国 東京都 千代田区 二番町 1 1 番地 9 ダイアパレス二番町
IV-1-2en	Address:	Dia Palace Nibancho, 11-9, Nibancho, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0084 Japan
IV-1-3 IV-1-4 IV-1-5	電話番号 ファクシミリ番号 電子メール	03-3230-4766 03-3263-4668 hatta@ma.kcom.ne.jp
IV-2 IV-2-1ja IV-2-1en	その他の代理人 氏名 Name(s)	筆頭代理人と同じあて名を有する代理人 (additional agent(s) with same address as first named agent) 野上 敦; 奈良 泰男; 齋藤 悦子 NOGAMI, Atsushi; NARA, Yasuo; SAITOH, Etsuko
V V-1	国の指定 広域特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	EP: AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国
V-2	国内特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	CA JP US

特許協力条約に基づく国際出願願書

F2000-32-PCT

原本（出願用） - 印刷日時 2000年03月30日（30.03.2000）木曜日 14時55分57秒

V-5	指定の確認の宣言 出願人は、上記の指定に加えて、規則4.9(b)の規定に基づき、特許協力条約のもとで認められる他の全ての国の指定を行う。ただし、V-6欄に示した国の指定を除く。出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。	
V-6	指定の確認から除かれる国	なし (NONE)
VI-1	先の国内出願に基づく優先権主張	
VI-1-1	先の出願日	1999年03月31日 (31.03.1999)
VI-1-2	先の出願番号	特願平11-093874
VI-1-3	国名	日本国 JP
VI-2	先の国内出願に基づく優先権主張	
VI-2-1	先の出願日	2000年01月31日 (31.01.2000)
VI-2-2	先の出願番号	特願2000-022596
VI-2-3	国名	日本国 JP
VI-3	優先権 証明書送付の請求 上記の先の出願のうち、右記の番号のものについては、出願書類の認証謄本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁に対して請求している。	VI-1, VI-2
VII-1	特定された国際調査機関 (ISA)	日本国特許庁 (ISA/JP)
VIII	照合欄	用紙の枚数
VIII-1	願書	4
VIII-2	明細書	26
VIII-3	請求の範囲	2
VIII-4	要約	1
VIII-5	図面	1
VIII-7	合計	34
VIII-8	添付書類	添付
VIII-8	手数料計算用紙	✓
VIII-9	別個の記名押印された委任状	✓
VIII-10	包括委任状の写し	✓
VIII-16	PCT-EASYディスク	-
VIII-17	その他	納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面
VIII-17	その他	国際事務局の口座への振込を証明する書面
VIII-17	その他	優先権 証明願
VIII-18	要約書とともに提示する図の番号	
VIII-19	国際出願の使用言語名:	日本語 (Japanese)

H12.3.30 職権訂正

特許協力条約に基づく国際出願願書

原本(出願用) - 印刷日時 2000年03月30日 (30.03.2000) 木曜日 14時55分57秒

IX-1	提出者の記名押印	
IX-1-1	氏名(姓名)	八田 幹雄



受理官庁記入欄

10-1	国際出願として提出された書類の実際の受理の日	
10-2	図面 :	
10-2-1	受理された	
10-2-2	不足図面がある	
10-3	国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であつてその後期間内に提出されたものの実際の受理の日(訂正日)	
10-4	特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日	
10-5	出願人により特定された国際調査機関	ISA/JP
10-6	調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない	

国際事務局記入欄

11-1	記録原本の受理の日	
------	-----------	--

明 細 書

皮膚外用剤

5 技術分野

本発明は、新規な皮膚外用剤に関する。詳しくは、水溶性のクロマノール配糖体を有効成分とする皮膚外用剤に関するものである。

背景技術

- 10 皮膚は人体の最表面にあるため、紫外線、熱、化学物質等、環境中に存在する種々のストレスを受けやすい。そのうち、紫外線（特に290～320nmの波長領域であるUVB）は、皮膚表面および皮膚組織内に活性酸素やフリーラジカルを発生させ、サンバーン（日焼け）や皮膚癌等の原因になるといわれている（井上正康編著「活性酸素と病態」学
- 15 会出版センター1992年10月1日初版発行、第567～576頁）。特に、近年オゾン層破壊により地表に届く紫外線量は増加の一途をたどっており、紫外線吸収剤による防護だけでは充分ではなく、皮膚組織内等において発生した活性酸素やフリーラジカルを消去することが重要になってきている。さらに、最近、炎症性ケミカルメディエータであるサ
- 20 イトカインが紫外線により誘導されること、これにより白血球等の免疫細胞が誘導され局所的な炎症反応が生じ、皮膚に強いダメージを与えること等がわかってきた（Thomas S. Kupper et al. : J. Clin. Invest. : Vol 80, August 1987, 430-436）。サイトカインの発現を抑制する物質としてはコルチ
- 25 コステロイド等のステロイドがあるが、免疫抑制効果があるため、消耗（Wasting）症候群、糖尿病、骨粗しょう症等の有害な副作用を

引き起こすことが知られている。したがって、紫外線による皮膚の局所炎症において、原因となる活性酸素やフリーラジカルを有効に消去し、かつ誘導されるサイトカインの産生をも抑制する物質の開発が望まれている。

- 5 また、上記局所炎症以外にも、皮膚が紫外線、熱、化学物質等により一度に多量のストレスを受けた場合、表皮基底細胞や真皮繊維芽細胞などの分裂能の低下を招くことが知られており、これに伴い皮膚全体が萎縮するばかりでなく、表皮細胞が作り出す天然保湿成分や細胞間マトリックス成分の減少や変性等を引き起こし、シミ、そばかすの増加やシワ、
- 10 タルミの形成等といった皮膚老化の進行をももたらすと考えられている。そこで、皮膚内のコラーゲン等のマトリックス成分を合成する線維芽細胞を活性化することにより、コラーゲンやヒアルロン酸等の代謝を活性化して皮膚細胞の柔軟性、弾力性を改善したり、ターンオーバーを促進させ皮膚の色素沈着を抑制し皮膚の美白化を促進する試みが行われている。
- 15 このような皮膚細胞の活性化および老化防止のための物質としては、ビタミンC、ビタミンE、レチノイン酸、レチノール誘導体等が知られているが、いずれも安定性、経皮吸収性、催奇形性等において問題があり、適用範囲が極めて限定されているのが現状であった。

- 一方、本発明に用いられるクロマノール配糖体は既知の化合物である
- 20 (特開平7-118287号公報、特開平9-249688号公報、特開平11-21291号公報)。該クロマノール配糖体は、代表的なビタミンEである α -トコフェロールのクロマン環の2位のフィチル基をアルコールで置換し、さらに糖を結合させて得られるものであり、高い水溶性と優れた抗酸化作用を有する。しかし、該クロマノール配糖体を
- 25 前述のような皮膚障害予防および治療剤や化粧品等の皮膚外用剤に利用することは知られていない。

本発明は上記従来技術の有する問題点に鑑みなされたものであり、その目的とするところは、副作用を伴うことなく少用量で効果的に作用して紫外線等による皮膚障害を抑制し治癒し得る新規な皮膚外用剤を提供することにある。

- 5 本発明の他の目的は、紫外線による皮膚の局所炎症において、原因となる活性酸素やフリーラジカルを有効に消去し、かつ誘導されるサイトカインの産生をも抑制し得る新規な皮膚外用剤を提供することにある。

本発明のさらに他の目的は、紫外線による皮膚の色素沈着を予防・改善し、優れた美白化作用を有する新規な皮膚外用剤を提供することにある。

10 本発明のさらに他の目的は、皮膚細胞を活性化し、皮膚の老化を防止し得る新規な皮膚外用剤を提供することにある。

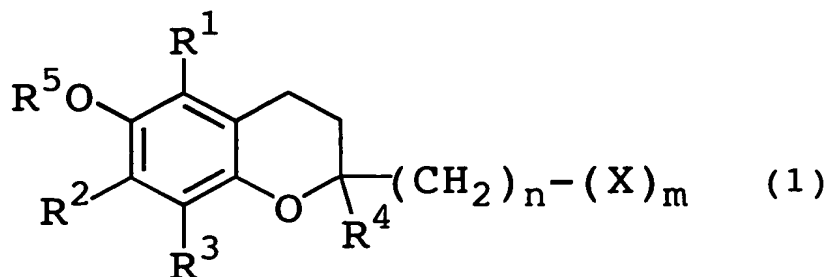
本発明のさらに他の目的は、有効成分を高濃度で含有する水性製剤とすることができ、安定性、経皮吸収性に優れた新規な皮膚外用剤を提供

発明の開示

本発明者らは、紫外線等による皮膚障害の予防および治療について鋭意研究を重ねた結果、前記クロマノール配糖体が、極めて効果的に皮膚

20 障害を抑制し治癒し得ることを見出し本発明を完成した。

即ち、本発明は、下記一般式（１）



(ただし、式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 および R^4 は同一または異なる水素原子または低級アルキル基を表し、 R^5 は水素原子、低級アルキル基または低級アシル基を表し、 X は糖残基中の水酸基の水素原子が低級アルキル基または低級アシル基で置換されていてもよい単糖残基またはオリゴ糖残基を表し、 n は 0 ～ 6 の整数であり、および m は 1 ～ 6 の整数である) で表されるクロマノール配糖体を含有してなる皮膚外用剤である。

本発明はまた、前記クロマノール配糖体は 2 - (α -D-グルコピラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2 - (β -D-ガラクトピラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2 - (β -D-フルクトフラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オールまたは 2 - (α -D-マンノピラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オールである前記皮膚外用剤である。

本発明はさらに、水性製剤である前記皮膚外用剤である。

本発明はまた、皮膚障害予防および治療剤である前記皮膚外用剤である。

本発明はさらに、紫外線障害予防および治療剤、皮膚色素沈着予防および改善剤、皮膚美白化剤、皮膚老化防止剤または細胞賦活剤である前記皮膚外用剤である。

本発明はまた、化粧品である前記皮膚外用剤である。

図面の簡単な説明

図 1 は、TMG の 200 nm ～ 400 nm における吸収スペクトルを測定した紫外スペクトルのグラフである。

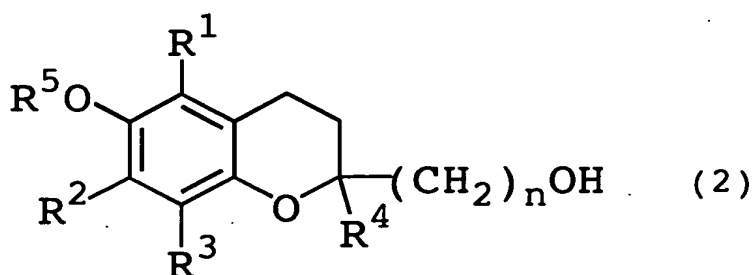
発明を実施するための最良の形態

本発明の皮膚外用剤は、前記一般式（１）で表されるクロマノール配糖体を有効成分とすることを特徴とするものである。

前記一般式（１）において、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 の低級アルキル基としては、炭素原子数が１～８、好ましくは１～６の低級アルキル基がよく、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ヘキシル基、ヘプチル基、オクチル基等が挙げられる。これらの中では、メチル基またはエチル基が好ましい。また、 R^5 の低級アシル基としては、炭素原子数が１～８、好ましくは１～６の低級アシル基がよく、例えば、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル基、バレリル基、イソバレリル基、ピバロイル基、ヘキサノイル基、ヘプタノイル基、オクタノイル等が挙げられる。これらの中では、アセチル基、プロピオニル基またはブチリル基が好ましい。また、 X の単糖残基としては、グルコース、ガラクトース、フコース、キシロース、マンノース、ラムノース、フルクトース、アラビノース、リキソース、リボース、アロース、アルトロース、イドース、タロース、デオキシリボース、２-デオキシリボース、キノボース、アベクオース等の糖残基が挙げられる。 X のオリゴ糖残基としては、上記単糖が２～４個結合したもの、例えばマルトース、ラクトース、セロビオース、ラフィノース、キシロビオース、スクロースの糖残基等が挙げられる。これらの中ではグルコース、ガラクトース、フコース、キシロース、ラムノース、マンノース、フルクトース等の単糖残基が好ましい。また、 X の糖残基中の水酸基の水素原子は低級アルキル基、好ましくは炭素原子数が１～８の低級アルキル基、または低級アシル基、好ましくは炭素原子数が１～１０の低級アシル基で置換されていてもよい。さらに、 n は０～６、好ましくは１～４の整数であり、 m は１～６、好ましくは１～３の整数である。

一般式(1)で表されるクロマノール配糖体の好ましい例としては、
 2-(α -D-グルコピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-(β -D-ガラクトピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-(β -L-フコピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-(α -L-ラムノピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-(β -D-キシロピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-(β -D-グルコピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-(β -D-フルクトフラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-(α -D-マンノピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール等が挙げられる。

本発明に用いられるクロマノール配糖体は、例えば特開平 7-118
15 287 号公報、特開平 9-249688 号公報、特開平 11-21291
号公報に記載の方法により、下記一般式(2)：



(ただし、式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 および n は前記と同義である) で表される 2-置換アルコールおよびオリゴ糖類を相当する糖転位作用を触媒する酵素の存在下に反応させ、2-置換アルコールの 2 位の水酸基に対して特異的に糖の特定の水酸基を結合させることからなる酵素反応によって製造される(酵素法)。

上記反応において原料として用いられる一般式(2)で表される2-置換アルコール(以下、単に「2-置換アルコール」という)は公知の物質であり、例えば、特公平1-43755号公報や特公平1-49135号公報等の開示された方法により得ることができる。また、例えば、

5 一般式(2)中、 R^1 、 R^2 、 R^3 および R^4 がメチル基、 R^5 が水素原子であり、 n が1である2-置換アルコールは、 α -トコフェロールのクロマン環の2位のフィチル基がカルボキシ基で置換された構造を有する6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸(商品名「トロロックス(Trolon)」)を水素化リチウム

10 ムアルミニウムの存在下においてジエチルエーテル中で加熱還流処理すること等により容易に得ることができる。

上記反応において使用される糖転位作用を触媒する酵素は、当該反応に用いる糖の種類によって以下のように使い分けることが好ましい。

(1) 2-置換アルコールに α -結合でグルコース残基を結合させる

15 場合：

(a) マルトースからマルトテトラオース位のマルトオリゴ糖に対しては α -グルコシダーゼ(α -glucosidase, EC 3. 2. 1. 20)を作用させることが望ましい。 α -グルコシダーゼとしては、ほぼ全ての起源由来のものを用いることができ、具体的には、東洋紡績

20 株式会社製のサッカロマイセス属(*Saccharomyces* sp.)由来の α -グルコシダーゼ、オリエンタル酵母工業株式会社製のサッカロマイセス セロビイシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)由来の α -グルコシダーゼ、天野製薬株式会社製のアスペルギルス ニガー(*Aspergillus niger*)由来

25 の α -グルコシダーゼ、和光純薬工業株式会社製のサッカロマイセス属(*Saccharomyces* sp.)由来の α -グルコシダーゼ、

シグマ (SIGMA) 製のベーカー イースト (Bakers yeast) 由来の α -グルコシダーゼ、バチルス属 (Bacillus) 由来の α -グルコシダーゼ等が挙げられる。

(b) 可溶性澱粉または澱粉に対しては4- α -グルカノトランスフェラーゼ (4- α -D-glucanotransferase, EC 2.4.1.25) を作用させることが望ましい。

(2) 2-置換アルコールに α -結合でグルコース残基またはマルトオリゴ糖残基を結合させる場合：

マルトオリゴ糖、可溶性澱粉、澱粉またはシクロデキストリン (α 、 β 、 γ) などに対してはシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ (cyclodextrin glucanotransferase, EC 2.4.1.19) を作用させることが望ましい。代表的な例としては、天野製薬株式会社製のバチルス マセランス (Bacillus macerans) 由来のシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ、株式会社林原生物化学研究所製のバチルス ステアロサーモフィラス (Bacillus stearothermophilus) 由来のシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ、その他にはバチルス メガテリウム (Bacillus megaterium)、バチルス サーキュランス ATCC 9995 (Bacillus circulans ATCC 9995) 由来のシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼなどが挙げられる。

(3) 2-置換アルコールに β -結合でグルコース残基を結合させる場合：

(a) セロビオース、カードランまたはラミナランなどの β -結合よりなるオリゴ糖に対しては β -グルコシダーゼ (β -glucosidase, EC 3.2.1.21) を作用させることが望ましい。

(b) リン酸存在下のセロビオースに対してはセロビオース ホスホ
リラーゼ (cellobiose phosphorylase, EC
2. 4. 1. 20) を作用させることが望ましい。

(4) 2-置換アルコールに α -結合でガラクトース残基を結合させ
5 る場合：

メリビオースまたはラフィノースなどに対しては α -ガラクトシダー
ゼ (α -galactosidase, EC 3. 2. 1. 22) を作用
させることが望ましい。

(5) 2-置換アルコールに β -結合でガラクトース残基を結合させ
10 る場合：

(a) ラクトースなどに対しては β -ガラクトシダーゼ (β -gal
actosidase, EC 3. 2. 1. 23) を作用させることが望
ましい。

(b) アラビノガラクタンなどに対してはエンドー1, 4- β -ガラ
15 クタナーゼ (Endo-1, 4- β -galactanase, EC 3.
2. 1. 89) を作用させることが望ましい。

(6) 2-置換アルコールに β -結合でフラクトース残基を結合させ
る場合：

(a) ショ糖、ラフィノースまたはメリビオースなどに対してはレバ
20 ンシュークラーゼ (levansucrase, EC 2. 4. 1. 1
0) を作用させることが望ましい。

(b) ショ糖に対しては β -フルクトフラノシダーゼ (β -fruc
t ofuranosidase, EC 3. 2. 1. 26) を作用させる
ことが望ましい。

(c) イヌリンなどに対してはイヌリンフルクトトランスフェラーゼ
25 (inulin fructotransferase, EC 2. 4.

1. 93) を作用させることが望ましい。

上記反応における反応条件は、使用するクロマノール配糖体や酵素の種類によって異なるが、例えば、一般式(1)中のmが1であるクロマノール配糖体を α -グルコシダーゼを用いて合成する場合には、2-置換アルコールを糖溶液に溶解させることが望ましい。そのためには有機溶媒の添加が望ましく、例えば、ジメチルスルホキシド、N, N-ジメチルホルムアミド、メタノール、エタノール、アセトン、およびアセトニトリルなどが挙げられ、 α -グルコシダーゼの転移活性を高める点を考慮すると、ジメチルスルホキシドやN, N-ジメチルホルムアミドが好ましく使用される。有機溶媒の添加濃度は、1~50 (体積/体積) %であり、反応効率を考えると5~35 (体積/体積) %であることが好ましい。

2-置換アルコールの濃度は、反応液中において飽和濃度若しくはそれに近い濃度にするのが望ましい。用いる糖の種類はマルトースからマルトテトラオース位の低分子のものが良く、好ましくはマルトースである。糖の濃度は1~70 (質量/体積) %、好ましくは30~60 (質量/体積) %である。pHは4.5~7.5、好ましくは5.0~6.5である。反応温度は10~70℃、好ましくは30~60℃である。反応時間は1~40時間、好ましくは2~24時間である。但し、これらの条件は使用する酵素量等により影響をうけることはいうまでもない。反応終了後、反応液をXAD (オルガノ株式会社) を担体として用いたカラムクロマトグラフィーで処理することにより、目的とするクロマノール配糖体が高純度で得られる。

また、例えば、一般式(1)中のmが1であるクロマノール配糖体をシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼを用いて合成する場合の反応条件としては、2-置換アルコールを糖溶液に溶解させることが

望ましい。そのためには有機溶媒の添加が望ましく、ジメチルスルホキシド、N, N-ジメチルホルムアミド、メタノール、エタノール、アセトンおよびアセトニトリルなどが挙げられる。添加する有機溶媒の濃度は1~50（体積／体積）％、好ましくは反応効率を考えると5~35（体積／体積）％である。2-置換アルコールの濃度は反応液中において、飽和濃度もしくはそれに近い高い濃度にすることが望ましい。

上記反応において用いられる糖の種類としては、マルトトリオース以上の重合度を持つマルトオリゴ糖、可溶性澱粉、澱粉およびシクロデキストリン（ α 、 β 、 γ ）などが好ましく挙げられる。糖の濃度は1~70（質量／体積）％、好ましくは5~50（質量／体積）％である。pHは4.5~8.5、好ましくは5.0~7.5である。反応温度は10~70℃、好ましくは30~60℃である。反応時間は1~60時間、好ましくは2~50時間である。但し、これらの条件は使用する酵素量により影響を受ける。このような反応により得られたクロマノール配糖体はmの数が1から8位の混合物となる。そこで、この混合物をグルコアミラーゼ（EC 3.2.1.3）を用いて処理することによって、一般式（1）中のmが1であるクロマノール配糖体だけを得ることができる。この際の反応温度は20~70℃、好ましくは30~60℃であり、反応時間は0.1~40時間、好ましくは1~24時間である。但し、これらの条件は使用する酵素の量により影響を受ける。次に、上記グルコアミラーゼ処理後の液を、XAD（オルガノ株式会社）を担体として用いたカラムクロマトグラフィー処理することにより、一般式（1）中のmが1であるクロマノール配糖体が高純度で得られる。

一般式（1）中のmが2であるクロマノール配糖体を得る場合には、上記と同様の条件下で、シクロデキストリングルカノトランスフェラーゼによって得られる一般式（1）におけるmが1から8位の混合物の形

態を有するクロマノール配糖体に β -アミラーゼ (EC 3. 2. 1.

2) を作用させることにより、一般式 (1) における m が 1 または 2 であるクロマノール配糖体のみが得られる。この時の反応温度は 20 ~ 70 °C、好ましくは 30 ~ 60 °C であり、反応時間は 0. 1 ~ 40 時間、

5 好ましくは 1 ~ 24 時間である。但し、これらの条件は使用する酵素量により影響を受ける。 β -アミラーゼ処理後の液は、XAD (オルガノ株式会社) を担体として用いたカラムクロマトグラフィー処理により、一般式 (1) における m が 2 であるクロマノール配糖体が高純度で得られると同時に、一般式 (1) における m が 1 であるクロマノール配糖体
10 も得られる。

一般式 (1) における m が 3 以上であるクロマノール配糖体を得る場合には、上記と同様の条件下で、シクロデキストリングルカノトランスフェラーゼによって得られる一般式 (1) における m が 1 から 8 位の混合物の形態を有するクロマノール配糖体を、HPLC を用いた分取クロ
15 マトグラフィーなどで処理することにより、高純度のクロマノール配糖体
15 体が各 m 毎に得ることができる。

上記実施態様では 2-置換アルコールにグルコース残基やマルトオリゴ糖残基を糖残基として結合させる場合の態様を記載したが、ガラクトース残基、マンノース残基、フルクトース残基等を糖残基として 2-置
20 換アルコールに結合させる場合は上記糖転位作用を触媒する酵素の項において説明した適切な酵素をそれぞれ使用する以外は上記実施態様と同様の操作を行うことによって、目的とするクロマノール配糖体が高純度で得られる (特開平 9-249688 号公報、特開平 11-21291 号公報)。

25 一方、本発明に用いられるクロマノール配糖体は、特願平 10-75599 号に記載の方法により、前記 2-置換アルコールの 6 位の水酸基

を保護基で保護したもの（以下「糖受容体」という）とアノマー位に脱離基を導入し他の水酸基を保護基で保護した糖の誘導体（以下、「糖供与体」という）とを縮合反応させることによって製造できる（有機合成法）。

- 5 上記反応において使用される糖受容体の6位の水酸基を保護する保護基としては、アセチル基、ベンゾイル基、ピバロイル基、クロロアセチル基、レプリノイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、アリル基、t-ブチルジメチルシリル基、t-ブチルジフェニルシリル基、トリメチルシリル基およびトリチル基等が挙げられ、特にアセチル基およびベンゾイル基が好ましい。

- 10 上記反応において使用される糖供与体のアノマー位に導入される脱離基としては、塩素、臭素やフッ素等のハロゲン原子、チオメチル基、チオエチル基やチオフェニル基等の硫黄化合物およびトリクロロアセトイミド基などが挙げられ、特に臭素、塩素、チオメチル基、チオエチル基、
- 15 チオフェニル基およびトリクロロアセトイミド基が好ましい。また、アノマー位以外の水酸基を保護する保護基としては、アセチル基、ベンゾイル基、ピバロイル基、クロロアセチル基およびレプリノイル基等のアシル系保護基、およびベンジル基、p-メトキシベンジル基、アリル基、t-ブチルジメチルシリル基、t-ブチルジフェニルシリル基、トリメ
- 20 チルシリル基およびトリチル基等のエーテル系保護基が挙げられ、中でもアシル系保護基、特にアセチル基が好ましい。

これらの糖供与体は、周知の方法により糖の全ての水酸基へ保護基を導入し、次いでアノマー位を脱離基に置換することにより容易に調製することができる。

- 25 上記糖受容体と糖供与体の縮合反応について示せば、まず、糖受容体と糖供与体を非極性溶媒に溶解する。糖受容体と糖供与体の仕込量は、

糖受容体に対する糖供与体のモル比が1.0～1.5、好ましくは1.1～1.3がよい。非極性溶媒としては、塩化メチレン、ベンゼン等が挙げられる。

次に、無水条件下で活性化剤の存在下で糖供与体および糖受容体の縮合反応を行う。活性化剤としては、三フッ化ホウ酸・エーテル錯体、過塩素酸銀、トリフルオロメタンスルホン酸銀、臭化水銀、シアン化水銀、N-ヨードコハク酸イミド・トリフルオロメタンスルホン酸、ジメチルメチルチオスルホニウムトリフラート、p-トルエンスルホン酸等が挙げられ、特に、臭素を糖誘導体の脱離基として使用した場合には過塩素酸銀等の重金属塩を使用することが好ましい。反応温度は5～30℃、好ましくは10～25℃がよく、反応時間は12～48時間、好ましくは20～30時間がよい。

次いで得られた反応物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー等で精製し、保護基を水酸化ナトリウムおよびメタノール性塩酸等で脱保護することにより、2-(β -L-フコピラノシル)メチル-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-(α -L-ラムノピラノシル)メチル-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-6-オール、2-(β -D-キシロピラノシル)メチル-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-6-オール等を得ることができる(特願平10-75599号)。

上記酵素法または有機合成法により得られたクロマノール配糖体は、一般的に、極めて高い水溶性(約100g/100ml)を有し、かつ油溶性にも富む(オクタノール/水系分配係数>3)両親媒性分子である。いいかえると、本発明によるクロマノール配糖体は、高い脂質親和性を備えた水溶性ビタミンEであるといえることができる。したがって、本発明によるクロマノール配糖体は、従来の水に不溶性あるいは貧溶性

のビタミンE誘導体とは異なり、水に溶解して使用しても高い脂質親和性を保つのできわめて優れた経皮吸収性を示し、細胞膜を透過しさらに細胞内にも入ることができる。これにより、生体内の抗酸化防御系を補強し、紫外線により皮膚表面および皮膚組織内において発生した活性酸素やフリーラジカルを効果的に消去するばかりでなく、かかる局所炎症において誘導されるサイトカインの産生をも有効に抑制して皮膚障害を予防し、または病態を飛躍的に改善する。また、皮膚内のコラーゲン等のマトリックス成分を合成する線維芽細胞を極めて効果的に活性化することができ、コラーゲンやヒアルロン酸等の代謝を活性化し、皮膚細胞の柔軟性、弾力性を改善するとともに、ターンオーバーを促進させ、伴い皮膚の色素沈着を抑制し皮膚の美白化をも促進する。さらに、上記反応により得られたクロマノール配糖体は、熱安定性、pH安定性、保存安定性に関してもトコフェロール、トロロックスまたは2-置換アルコールに比べて著しく向上するものである。

- 15 本発明の外用剤は、医薬用製剤または化粧品用製剤の態様で利用することができる。

- 本発明の皮膚外用剤を医薬用製剤として用いる場合、紫外線、熱、化学物質等のストレスにより生ずる皮膚炎症、日焼け、早期老化、皮膚癌、光線角化症等の予防および治療剤、皮膚色素沈着予防および改善剤、皮膚美白化剤、シワ、タルミ形成予防および改善剤、皮膚老化防止剤、皮膚細胞賦活剤等の皮膚障害予防および治療剤として利用することができる。この場合、ローション剤、懸濁剤、乳剤等の液状製剤、ゲル剤、クリーム剤、軟膏等の半固形製剤、散剤、粉剤もしくは用時溶解して塗布するための顆粒剤等の固形製剤として、標的部位およびその周辺部位に経皮的に投与できる。これらの好ましい製剤形態や投与形態等は、患者の年齢、性別、体質、症状、処置時期等に応じて、医師によって適宜選
- 20
- 25

扱われる。

- また、本発明の皮膚外用剤を化粧品用製剤として用いる場合、液状、ペースト、ゲル、クリーム状等の半固形状または固形状の化粧品とすることができ、化粧水、ローション、乳液、クリーム、パック、洗淨料、ファンデーション、口紅、シャンプー、リンス、トリートメント等として利用することができる。

- 本発明の皮膚外用剤は、前記クロマノール配糖体と通常用いられる製剤成分または化粧品成分とを適宜配合して、常法により製造することができる。すなわち、精製水、リン酸緩衝液等の適当な緩衝液、生理的食塩水、リンゲル溶液、ロック溶液等の生理的塩類溶液、ラノリン、ミンク油、馬油、アーモンド油、ヒマシ油、ホホバ油、メドフォーム油、オリーブ油、ごま油、カカオバター等の動植物油、鉱油、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、イソオクタン酸セトステアрил、イソステアリン酸アルキルエステル等の合成油、コレステリン、ラノリンアルコール、フィトステロール等のステロール類およびそれらの誘導体、固形パラフィン、セレシン、鯨ロウ、ミツロウ、カルナウバロウ等のワックス類、流動パラフィン、スクアラン等の炭化水素油、ラウリン酸、ステアリン酸、オレイン酸等の高級脂肪酸類、エタノール等の低級アルコール類、ラウリルアルコール、セタノール、セトステアрилアルコール、オレイルアルコール等の高級アルコール類、グリセリン、ソルビット、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール等の多価アルコール類、ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩、2-アルキル-N-カルボキシメチル-N-ヒドロキシエチルイミダゾリニウムベタイン、N-ヤシ油脂肪酸アシル-L-グルタミン酸塩、ポリオキシエチレン高級アルコールエーテル、ポリオキシエチレン高級脂肪酸エステル、ポリ

オキシエチレン硬化ヒマシ油等の界面活性剤類、ヒアルロン酸塩、ピロリドンカルボン酸塩、加水分解コラーゲン液等の保湿剤、海藻エキス、カラギーナン、キサンタンガム、ポリビニルアルコール、カルボキシビニルポリマー等の増粘剤類、オキシ安息香酸アルキルエステル類、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化アルキルトリメチルアンモニウム、フェノキシエタノール、トリクロサン、トリクロロカルバニリド、ジンクピリチオン等の防腐、殺菌剤、BHT、BHA、ビタミンA類、C類、E類およびそれらの誘導体等の酸化防止剤、ベンゾフェノン誘導体、パラアミノ安息香酸誘導体、メトキシケイ皮酸誘導体、ウロカニン酸等の紫外線吸収剤、カチオン化デキストラン等のカチオンリンス剤類、胎盤抽出物、鶏冠抽出物、アルニカエキス、アロエエキス、海藻エキス、カモミラエキス、カンゾウエキス、キナエキス、ニンニクエキス、メリッサエキス等の動・植物抽出エキス類、タルク、カオリン、マイカ、ベントナイト、雲母、雲母チタン、酸化チタン、ベンガラ、酸化鉄等の顔料、香料等を前記クロマノール配糖体と適宜組合せて、溶解、分散、乳化、混合等することにより、水溶液、非水溶液、懸濁液、リボソーム、エマルジョン等の液状、ペースト、ゲル、クリーム状等の半固形状または固形状の医薬用または化粧品用製剤とすることができる。

本発明の皮膚外用剤に含まれるクロマノール配糖体の濃度は、投与形態、疾病の種類や重篤度、目的とする投与量等によって様々であるが、一般的には原料の全質量に対して0.1～90質量%、好ましくは1～80質量%である。この際、クロマノール配糖体の濃度が前記上限値を超えると過剰な投与量に見合った皮膚細胞活性化の効果が得られず、前記下限値未満であるとかかる効果が十分に期待できずいずれも好ましくない。

本発明の皮膚外用剤の投与量は、患者の年齢、体重および症状、目的

とする投与形態や方法、治療効果、および処置期間等によって異なり、正確な量は医師により決定されるものであるが、通常、クロマノール配糖体として0.01~1000mg/kg体重/日の範囲になるように1日に1回から複数回に分けて投与される。

- 5 本発明の皮膚外用剤の皮膚障害予防および治療効果を、以下に述べる薬理試験により確認した。

なお、クロマノール配糖体として、下記の化合物を用いた。各化合物は、それぞれ各化合物名の後に確固書きで付記した文献に記載された方法に従って製造した。

- 10 TMG : 2-(α -D-グルコピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール (特開平7-118287号公報)
 TMGA : 2-(β -D-ガラクトピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール (特開平9-249688号公報)
 15 TMFR : 2-(β -D-フルクトフラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール (特開平11-21291号公報)
 TMMA : 2-(α -D-マンノピラノシル)メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール (特開平11-21291号公報)。
 20

紫外線 (UVB) 障害予防効果確認試験

エタノールを用いて1mM TMGを調整し、200nm~400nmの吸収スペクトルを測定した。得られたTMGの吸収スペクトルを図1に示す。

- 25 チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞 (V79) または正常日本人皮膚由来2倍体線維芽細胞 (NB1RGB) を細胞密度が 5.0×1

0⁴個/mlとなるように培地で調整し、96穴プレートの各ウェルに100μlずつ播種し、37℃、5%CO₂雰囲気下で24時間培養を行った。培地としては、V79には10%牛胎仔血清含有のE-MEM培地（ニッスイ社製）、NB1RGBには10%牛胎仔血清含有のα-MEM培地（SIGMA社製）を用いた（以下これらを「通常培地」という）。

24時間後培地を除去し、各ウェルを200μlのHanks平衡塩類緩衝液（Hanks buffer）で2回洗浄した。そして、Hanks bufferのみをウェル当たり100μl加えたものをコントロール群とし、クロマノール配糖体の最終濃度が1mMとなるように溶解させたHanks bufferをウェル当たり100μl加えたものをクロマノール配糖体添加群とした。なお、1群を46とした。そして、紫外線ランプ（コスモバイオ製）を用いてUVB（312nm）を60mJ/cm²照射した。照射エネルギー量は紫外線強度計（トプコン社製、UVR-2）を用いて測定した。照射後直ちに各ウェルを200μlのHanks bufferで2回洗浄し、通常培地を各ウェルに100μl加え72時間培養を行った。72時間後、ニュートラルレッド試薬（0.015%）を各ウェルに100μl加え3時間培養した。3時間後培地を除去し、固定液（0.5%ホルムアルデヒド-0.1%塩化カルシウム水溶液）を各ウェルに200μl加え1分間の固定後、固定液を除去した。ついで、抽出液（50%エタノール-1%酢酸水溶液）を各ウェルに100μlずつ加え、20分間静置し、マイクロプレートリーダーで490nmの吸光度を測定し、細胞の生存数を算出した。これをもとに、紫外線無照射群の細胞数を100%としたときの相対生存率を求めた。得られた結果を表1に示す。

表 1

		生存率 (%)	
		V 7 9	N B 1 R G B
コントロール群		2 1 ± 6	4 5 ± 1 3
クロマノール 配糖体添加群	T M G	7 5 ± 8 *	7 8 ± 1 6 *
	T M G A	8 3 ± 7 *	8 3 ± 1 4 *
	T M F R	8 9 ± 9 *	8 1 ± 1 2 *
	T M M A	9 6 ± 9 *	7 9 ± 8 . 7 *

* : $P < 0.05$ (コントロール群と比較)

紫外線 (UVB) 誘導サイトカイン抑制効果確認試験

1. 紫外線 (UVB) 障害予防効果試験法

- 5 正常ヒト新生児包皮表皮角化細胞 (凍結保存品、クラボウ社製) を細胞密度が 1.0×10^5 個/ml となるように H u M e d i a - K G 2 培地 (クラボウ社製) で調整し、6 穴プレートの各ウェルに 2 ml ずつ播種し 37°C 、5% CO_2 雰囲気下で 24 時間培養を行なった。培養後培地を除去し、各ウェルを 2 ml の H a n k s b u f f e r で 2 回洗
- 10 浄した。H a n k s b u f f e r のみをウェル当たり 1 ml 加えたものをコントロール群とし、0.1 mM の被検物質を含む H a n k s b u f f e r をウェル当たり 1 ml 加えたものを被検物質添加群とした。なお、1 群を 8 とした。そして、紫外線ランプ (コスモバイオ製) を用いて UVB (312 nm) を 30 mJ/cm^2 照射した。照射エネルギー量
- 15 量は紫外線強度計 (トプコン社製、UVR-2) を用いて測定した。照射後直ちに各ウェルを 2 ml の H a n k s b u f f e r で 2 回洗浄

し、HuMedia-KG2培地を各ウェル当たり1ml加え、37℃、5%CO₂雰囲気下において6時間培養した。

2. 紫外線 (UVB) 障害治療効果試験法

正常ヒト新生児包皮表皮角化細胞 (凍結保存品、クラボウ社製) を細

- 5 胞密度が 1.0×10^5 個/mlとなるようにHuMedia-KG2
培地 (クラボウ社製) で調整し、6穴プレートの各ウェルに2mlずつ
播種し37℃、5%CO₂雰囲気下で24時間培養を行った。培養後培
地を除去し、各ウェルを2mlのHanks bufferで2回洗浄
し、Hanks bufferのみをウェル当たり1ml加えた。そし
10 て、紫外線ランプ (コスモバイオ製) を用いてUVB (312nm) を
30mJ/cm²照射した。照射エネルギー量は紫外線強度計 (トプコ
ン社製、UVR-2) を用いて測定した。照射後直ちに各ウェルを2m
lのHanks bufferで2回洗浄し、HuMedia-KG2
培地のみをウェル当たり1ml加えたものをコントロール群とし、0.
15 1mMの被検物質を含むHuMedia-KG2培地をウェル当たり1
ml加えたものを被検物質添加群とした。なお、1群を8とした。そし
て、37℃、5%CO₂雰囲気下において6時間培養した。

3. インターロイキン-1 α (IL-1 α) の測定

- 6時間培養後の上清を回収し、1000rpmで5分間遠心し、得ら
20 れた上清中のIL-1 α の濃度を、ENDOGEN社製ELISAキッ
トを用い定量した。なお、有意差検定はt-testで行い、それそれ
の未処理群に対して処理した。表2にIL-1 α の産生抑制効果試験の
結果を示す。

表 2

	I L-1 α 産生量 ($\mu\text{g/ml}$)	
	予防効果	治療効果
コントロール群	29.9 \pm 6.2	28.9 \pm 4.5
TMG	14.5 \pm 3.5 *	18.5 \pm 4.2 *
アスコルビオン酸	16.5 \pm 2.8 *	31.7 \pm 5.0
グルタチオン	7.2 \pm 3.4 * *	36.5 \pm 1.6

Means \pm S. E.

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (いずれもコントロール群と比較)

図 1 より、クロマノール配糖体は 310 nm 以上に吸収がほとんどないにもかかわらず、表 1 より明らかなように、UVB 照射後の生存率を有意に向上させることができた。また、表 2 から明らかなように、クロマノール配糖体はアスコルビン酸やグルタチオンが紫外線により誘導される IL- α の産生において、予防効果のみしか有しないのに対して、TMG は予防効果、治療効果共に有していることが認められ、TMG が皮膚における炎症性疾患の予防、治療に有効であることがわかった。

10 紫外線誘導色素沈着改善効果確認試験

A-1 系有色モルモット (雌性、7 週齢) を 1 群 6 匹として、背部を剃毛し背部皮膚に紫外線 (光源: キセノンランプ、照射量: 2 MED \times 1 分間) を 1 日 1 回、3 ~ 4 日毎に計 3 回繰り返して照射し、色素沈着モデルを作製した。10 日間放置後、色素沈着部の特定部位の皮膚明度 (L 値) を色差計を用いて測定した (前値)。その色素沈着部に、50 % エタノール溶液を溶媒に用いて調整した 5 % TMG 溶液 (塗布量:

5. $6 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) を1日2回、3週間連続して塗布し、これをTMG塗布群とした。また、5%TMG溶液の代わりに50%エタノール溶液を同様に塗布したものをコントロール群とした。塗布を開始して3週間後、背部皮膚の明度を色差計で測定し(後値)、 ΔL 値(前値-後値)を求めた。結果を表3に示す。

表 3

	ΔL 値
TMG 塗布群	2.00
コントロール群	0.05

表4より明らかなように、紫外線により沈着した色素が、クロマノール配糖体の塗布により有意に淡色化されており、本発明の皮膚外用剤が、紫外線による色素沈着の改善作用を有することがわかった。

細胞増殖促進効果確認試験

V79またはNB1RGBを細胞密度が 5×10^4 個/ ml となるように培地で調整した。ついで、96穴プレートの各ウェルに $100 \mu\text{l}$ ずつ播種し、 37°C 、5% CO_2 雰囲気下で72時間培養を行った。培地は、通常培地を用いた。 $100 \mu\text{M}$ クロマノール配糖体含有の通常培地で培養した群をクロマノール配糖体添加群とし、通常培地で培養した群をコントロール群とした。なお、1群を80とした。72時間後、ニュートラルレッド試薬(0.015%)を各ウェルに $100 \mu\text{l}$ 加え3時間培養した。3時間後培地を除去し、固定液(0.5%ホルムアルデヒド-0.1%塩化カルシウム水溶液)を各ウェルに $200 \mu\text{l}$ 加え1分間の固定後、固定液を除去した。ついで抽出液(50%エタノール-

1%酢酸水溶液)を各ウェルに100 μ lずつ加え、20分間静置し、マイクロプレートリーダーで490nmの吸光度を測定して、細胞数を算出した。これをもとに、コントロール群の細胞数を100%としたときの相対増殖率を求めた。得られた結果を表3に示す。

5

表4

		増殖率 (%)	
		V79	NB1RGB
コントロール群		100	100
クロマノール 配糖体添加群	TMG	112	118
	TMGA	115	121
	TMFR	126	115
	TMMA	124	121

表4より明らかなように、クロマノール配糖体添加による細胞増殖が有意に認められ、本発明の皮膚外用剤は、細胞活性化作用を有することがわかった。

10

急性毒性試験

本発明の皮膚外用剤について急性毒性試験を行い、その安全性を確認した。4~5週令のICR系マウスを1群3匹として用い、クロマノール配糖体として上記と同じTMGを5%アラビアゴム液に懸濁した後、

TMG換算で500mg/kgを経口投与して1週間観察した。この際、

対照群として5%アラビアゴム液を0.3ml経口投与した。その結果、

いずれの投与群においてもマウスの死亡例は認められなかった。

15

製造例 1

TMG 1 g、エタノール 3 g、ヒドロキシエチルセルロース 0.2 g およびパラオキシ安息香酸メチル 0.1 g を精製水 100 ml に混合溶解してローション剤を得た。

5 製造例 2

TMG 2 g、流動パラフィン 6 g、ミツロウ 2 g、自己乳化型モノステアリン酸グリセリド 3 g および白色ワセリン 5 g を加温して溶解、分散させ、軟膏剤を得た。

製造例 3

- 10 TMG 2 g を、モノステアリン酸グリセリド 2 g、ステアリルアルコール 4 g、オクチルドデカノール 2 g およびモノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン 5 g に加温しながら分散させ、これにパラオキシ安息香酸メチル 0.1 g、グリセリン 5 g 及び精製水 60 g を加温して溶解させたものを加え、高速攪拌により乳化、冷却し、クリーム剤を得た。

15 製造例 4

TMG 2 g、エタノール 5 g、1,3-ブチレングリコール 5 g および香料 0.05 g を精製水 100 g に混合溶解して化粧水を得た。

産業上の利用可能性

- 20 上述したように、本発明の皮膚外用剤は、水溶性で優れた抗酸化活性を有するクロマノール配糖体を有効成分とするので、紫外線により皮膚表面および皮膚組織内において発生した活性酸素やフリーラジカルを効果的に消去して、皮膚障害を抑制し、病態を飛躍的に改善することができる。

- 25 また、本発明の皮膚外用剤は、紫外線による局所炎症において誘導されるサイトカインの産生をも有効に抑制して皮膚炎症の拡大を抑制する

ことができる。

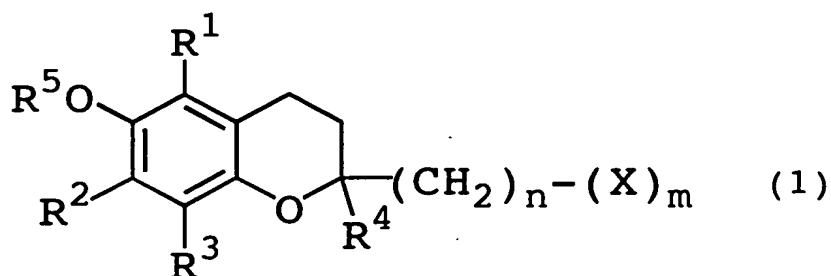
さらに、本発明の皮膚外用剤は、皮膚内のコラーゲン等のマトリックス成分を合成する線維芽細胞を極めて効果的に活性化することができ、コラーゲンやヒアルロン酸等の代謝を活性化し、皮膚細胞の柔軟性、弾力性を改善するとともに、ターンオーバーを促進させ、伴い皮膚の色素沈着を抑制し皮膚の美白化をも促進することができる。

本発明の皮膚外用剤は、高い水溶性を有するクロマノール配糖体を有効成分とするので、有効成分を高濃度で含有する水性製剤とすることができ、保存安定性が高い。しかも、経皮吸収性に優れるので、外用剤として患部に経皮的に投与でき、少用量で患部に効果的に作用し、皮膚障害を予防、治療することができるとともに、副作用を伴わないので極めて安全に使用することができる。

したがって、本発明の皮膚外用剤は、紫外線障害予防および治療剤、皮膚色素沈着予防および改善剤、皮膚美白化剤、皮膚老化防止剤または細胞賦活剤等の皮膚障害予防および治療剤や化粧品として用いた場合極めて有用である。

請求の範囲

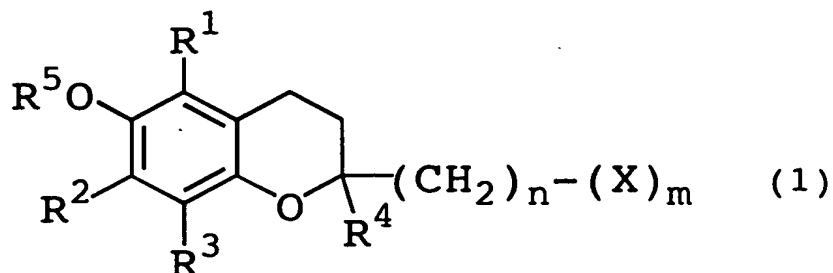
1. 下記一般式(1)



- 5 (ただし、式中、R¹、R²、R³ および R⁴ は同一または異なる水素原子または低級アルキル基を表し、R⁵ は水素原子、低級アルキル基または低級アシル基を表し、X は糖残基中の水酸基の水素原子が低級アルキル基または低級アシル基で置換されていてもよい単糖残基またはオリゴ糖残基を表し、n は 0 ～ 6 の整数であり、および m は
- 10 1 ～ 6 の整数である) で表されるクロマノール配糖体を含有してなる皮膚外用剤。
2. 前記クロマノール配糖体は 2 - (α-D-グルコピラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2 - (β-D-ガラクトピラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オール、2 - (β-D-フルクトフラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オールまたは 2 - (α-D-マンノピラノシル) メチル-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-6-オールである請求の範囲第 1 項に記載の皮膚外用剤。
- 15
- 20 3. 水性製剤である請求の範囲第 1 または 2 項に記載の皮膚外用剤。
4. 皮膚障害予防および治療剤である請求の範囲第 1 ～ 3 項に記載の皮膚外用剤。

5. 紫外線障害予防および治療剤、皮膚色素沈着予防および改善剤、皮膚美白化剤、皮膚老化防止剤または細胞賦活剤である請求の範囲第4項に記載の皮膚外用剤。
6. 化粧品である請求の範囲第1～3項に記載の皮膚外用剤。

要 約 書



- (ただし、式中、R¹、R²、R³ および R⁴ は同一または異なる水素原子または低級アルキル基を表し、R⁵ は水素原子、低級アルキル基または低級アシル基を表し、X は糖残基中の水酸基の水素原子が低級アルキル基または低級アシル基で置換されていてもよい単糖残基またはオリゴ糖残基を表し、n は 0 ～ 6 の整数であり、および m は 1 ～ 6 の整数である) で表されるクロマノール配糖体を含む皮膚外用剤である。
- 10 安定性、経皮吸収性に優れ、安全かつ少用量で効果的に作用し、皮膚障害を予防、治療しうる新規な皮膚外用剤であり、紫外線障害予防および治療剤、皮膚色素沈着予防および改善剤、皮膚美白化剤、皮膚老化防止剤または細胞賦活剤等の皮膚障害予防および治療剤や化粧品として極めて有用である。

図 1

